تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری

حلیمه ولی‌اللهی رودباری[1*]، احمد عبدل‌زاده[2]، همت‌اله پیردشتی[3]، محمد یعقوبی خانقاهی[4]

[1*] دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم پایه دانشگاه گلستان

[2] دانشیار و عضو هیئت علمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گلستان

[3] دانشیار و عضو هیئت علمی گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[4] عضو هیئت علمی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*Email: valiollahi_h2@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در گیاه برنج تحت تنش شوری، پژوهشی در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح شوری (صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. دو هفته پس از اعمال تیمار شوری و اسید سالیسیلیک، پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد. اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر فلورسانس حداقل (F_o)، فلورسانس متغیر (F_v)، ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی ($Y_{(NO)}$) اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت. تنش شوری باعث کاهش معنی‌داری در فلورسانس متغیر و ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و افزایش معنی‌داری در فلورسانس حداقل و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی شد. اسید سالیسیلیک با افزایش ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و کارایی کوانتومی غیر فتوشیمیایی و فلورسانس حداقل سبب افزایش کارایی فتوسنتز گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، برنج، شوری، فلورسانس

مقدمه

ازجمله بارزترین واکنش‌های گیاهان به عامل تنش‌زای محیطی افت فتوسنتز ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد (عشقی‌زاده و احسان‌زاده، ۱۳۸۸). شوری عملکرد کوانتومی فتوسنتز را کاهش و فعالیت فتوسیستم II را مهار می‌کند، درحالی‌که فعالیت فتوسیستم I و تنفس را تحریک می‌کند. تنش نوری و شوری فاکتورهای اصلی محیطی هستند که کارایی فتوسنتز را محدود می‌کنند. نور شدید آسیب به فتوسیستم II را افزایش می‌دهد، درحالی‌که شوری مانع ترمیم فتوسیستم II آسیب دیده می‌شود و به‌طور مستقیم به فتوسیستم II آسیب وارد نمی‌کند. اثرات متابولیکی اسید سالیسیلیک و ترکیبات وابسته به آن با توجه به نوع گیاه، مقدار و نحوه کاربرد اسید سالیسیلیک تغییر می‌کند (حیات و همکاران، ۲۰۰۹). اسید سالیسیلیک تأثیر خود را بر فتوسنتز از طریق تأثیر بر فاکتورهای روزنه‌ای، رنگیزه‌ها و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند (غایی و همکاران، ۲۰۰۲). انرژی نوری جذب شده به‌وسیله مولکول‌های کلروفیل در یک برگ می‌تواند به‌صورت‌های: ۱- به جریان انداختن عمل فتوسنتز، ۲- پراکنده شدن به صورت گرما و ۳- بازگشت مجدد به صورت انرژی تابشی درآید که در واقع فلورسانس کلروفیل همین بخش از انرژی جذب شده است (مکسول و جانسون، ۲۰۰۰). برای ارزیابی تغییرات فتوشیمیایی و غیرفتوشیمیایی دستگاه فتوسنتزی در گیاه، از شاخص‌های متفاوتی استفاده می‌شود که فلورسانس کلروفیل a یکی از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد (پان و همکاران، ۲۰۰۶). در حالت کلی فلورسانس کلروفیل a یک شاخص فیزیولوژیک معتبر برای مشخص نمودن تغییرات القا شده در دستگاه فتوسنتزی می‌باشد (مهتا و همکاران، ۲۰۱۰). این معیار به‌صورت غیرتخریبی هم در مطالعات آزمایشگاهی و هم مزرعه‌ای با بکارگیری فلورومتر قابل حصول است (مکسول و جانسون، ۲۰۰۰). با توجه به مطالب فوق و سطح کشت گسترده برنج در استان مازندران و همچنین لزوم مطالعه در زمینه تنش‌های محیطی نظیر شوری، این پژوهش در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با هدف بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل گیاه برنج تحت تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی در این پژوهش شامل شوری در سه سطح (صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار NaCl) و اسید سالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. کشت گیاهان (رقم قائم) در این آزمایش به صورت هیدروپونیک انجام

شد به طوری که ابتدا بذرها پس از استریل شدن با هیپوکلرید ده درصد در پتری‌دیش با آب مقطر قرار داده شد تا بذور استقرار یابند. پس از چند روز، گیاهچه‌ها به ظروف چهار لیتری حاوی محیط کشت یوشیدا (یوشیدا و همکاران، ۱۹۷۲) منتقل شد. دو هفته پس از اعمال تیمار شوری و اسید سالیسیلیک پارامترهای فلورسانس کلروفیل (F_o, F_m, F_v, F_v/F_m) به‌وسیله دستگاه فلورسانس فلورومتر (PAM-2500, Walz, Germany) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری این پارامترها، قسمتی از برگ مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت (مدت زمان تاریکی بسته به نوع گیاه متغیر است). بدین منظور گیره‌های مخصوص تاریکی روی برگ (توسعه‌یافته) گیاه کامل قرار گرفتند (یمانی و همکاران، ۲۰۰۸). در اثر تاریکی، واکنش روشنایی فتوسنتز متوقف می‌گردد. سپس گیره‌ها به فیبر نوری دستگاه متصل و دریچه گیره‌ها باز شده و پارامترهای مرتبط با مرحله تاریکی (F_o و F_m) اندازه‌گیری شدند. سپس بعد از جداکردن گیره‌ها، نور قرمز به برگ تابیده می‌شود. در نهایت، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Genstat تجزیه و تحلیل و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

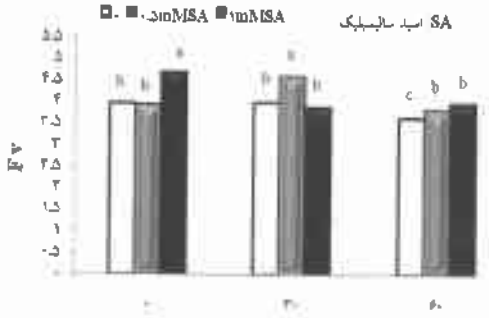
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد اثر شوری و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آن‌ها به‌طور معنی‌داری بر فلورسانس حداقل (F_o)، فلورسانس متغیر ($F_v=F_m-F_o$)، ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی ($Y_{(NO)}$) در سطح احتمال یک درصد مؤثر بود. اما در مورد فلورسانس حداکثر (F_m) این اثرات معنی‌دار نبود. بر اساس یافته‌ها، فلورسانس متغیر (F_v) و ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) با افزایش شوری به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. نسبت F_v/F_m حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی را نشان می‌دهد. تتوندو و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در گیاه سورگوم تحت تنش شوری کاهش می‌یابد. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌داری در شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار و غلظت یک میلی‌مولار آن باعث افزایش معنی‌داری در شرایط بدون تنش شوری و شوری ۶۰ میلی‌مولار در این دو پارامتر گردید (شکل ۱ و ۲). تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم (II) تحت تنش گرما در گیاه خیار (شی و همکاران، ۲۰۰۶) و تحت تنش خشکی در لوبیا (نلسون و ماریا، ۲۰۰۶) نیز گزارش شده است.

در پژوهش حاضر شوری به میزان ۶۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌داری در میزان فلورسانس حداقل (F_o)، و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌داری در میزان این پارامتر در شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار شد. همچنین اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار در شرایط بدون تنش و شوری ۶۰ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فلورسانس حداقل گردید (شکل ۳). افزایش در F_o، نشان‌دهنده تخریب مراکز واکنش فتوسیستم II یا مهار انتقال انرژی برانگیخته از آنتن به مرکز واکنش است (بالهار-نوردنکامپ و همکاران، ۱۹۸۹). $Y_{(NO)}$، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی، بخشی از انرژی است که به‌طور غیرفعال به شکل نور فلورسانس و گرما اتلاف می‌گردد که اکثراً به‌خاطر مراکز واکنشی فتوسیستم II بسته می‌باشد. $Y_{(NO)}$ مرتبط با کارائی کوانتومی خاموشی غیرفتوشیمیایی تحریکی از طریق اتلاف‌های ساختاری اولیه می‌باشد. به‌طور مثال اتلاف انرژی گرمایی، زمانی که تولید فتوشیمیایی حداکثر و اتلاف فلورسانس در حداکثر می‌باشد (جنتی و همکاران، ۱۹۹۶). شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌داری در میزان $Y_{(NO)}$ شده و کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت یک میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌داری در شرایط بدون تنش شوری و شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار گردید. همچنین اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار موجب کاهش معنی‌داری در میزان $Y_{(NO)}$ در شوری ۶۰ میلی‌مولار شد (شکل ۴). در مجموع به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با افزایش ماکزیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و کاهش خاموشی غیرفتوشیمیایی و فلورسانس حداقل سبب افزایش کارایی فتوسنتز گردید.

جدول ۱- میانگین مربعات برای صفات مورد مطالعه در طرح کاملاً تصادفی

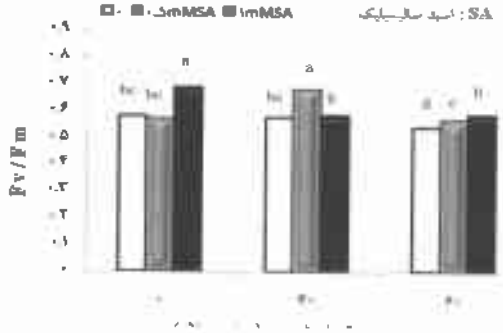
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		F_o	F_m	F_v	F_v/F_m	$Y_{(NO)}$
شوری (فاکتور A)	۲	۰/۲۹۳۴ **	۰/۱۴۸۸ ns	۰/۴۰۴۹ **	۰/۰۰۷۴ **	۰/۰۰۱۰ **
اسید سالیسیلیک (فاکتور B)	۲	۰/۳۰۱۶ **	۰/۰۰۴۷ ns	۰/۲۸۱۷ **	۰/۰۰۶۹ **	۰/۰۰۸۴ **
اثر متقابل A×B	۴	۰/۴۶۰۰ **	۰/۰۰۵۰ ns	۰/۳۸۴۴ **	۰/۰۰۸۸ **	۰/۰۰۷۱ **
خطای آزمایش	۱۸	۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۹۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۳	۱/۴	۲/۴	۱/۶	۴/۴

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد و ns، غیر معنی‌دار

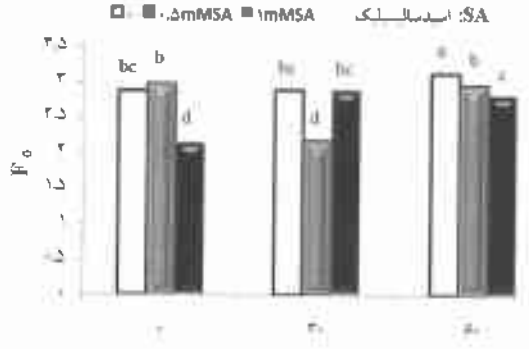


تیمار شوری(میلی مولار)

شکل ۱- تأثیر اسید سالیسیلیک بر فلورسانس متغیر (F_v) در گیاه برنج تحت تنش شوری

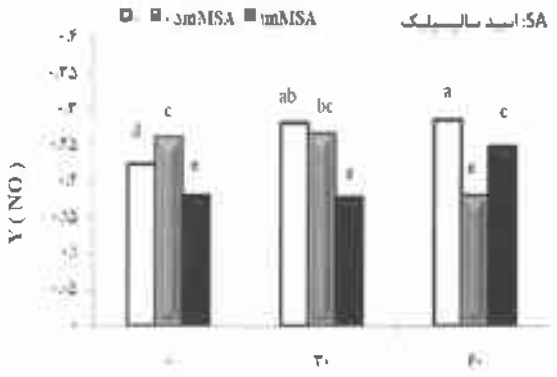


شکل ۲- تأثیر اسید سالیسیلیک بر ماکزیمم کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) در گیاه برنج تحت تنش شوری



تیمار شوری (میلی مولار)

شکل ۳- تأثیر اسید سالیسیلیک بر فلورسانس حداقل (F_o) در گیاه برنج تحت تنش شوری



تیمار شوری (میلی مولار)

شکل ۴- تأثیر اسید سالیسیلیک بر خاموشی غیرفتوشیمیایی $Y_{(NO)}$ در گیاه برنج تحت تنش شوری

برخی از منابع مورد استفاده

عشقی‌زاده، ح.ر و پ. احسان‌زاده. ۱۳۸۸. تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر چند ژنوتیپ درت فلورسانس کلروفیل، خصوصیات رشد و عملکرد دانه. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۰(۲): ۱۴۴- ۱۳۵.

Bolhar-Nordenkampf H R, Long S P, Baker N R, Oquist G, Schreiber U, Lechner E G, 1989. Chlorophyll flurescence as a probe of the photosynthetic competence of heaves in the field : A review of current instrumentation. Functional Ecology. 3: 497-514.

Genty B, Harbinson J, Cailly A L, Rizza F, 1996. Fate of excitation at PS II in leaves: the non-photochemical side. Presented at The Third bbSRC Robert Hill Symposium on Photosynthesis, March 31 to April 3, 1996, Universityof Sheffield, Department of Molecular biologyand biotechnology, Western bank, Sheffield, UK, A bstractno. P28

Ghai N, Setia R C, Setia N, 2002. Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL-1). Phytomorphology. 52:83-87.

Hayat S, Masood A, Yusef M, Fariduddin Q and Ahmad A, 2009. Growth of Indian musard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under hight-temperature stress. Braz Journal Plant Physiology. 21(3): 187- 195.

Maxwell K and Johnson G N, 2000. Review article: Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal of Experimantal Botany. 51: 659-668.

Mehta P, Jajoo A, Mathur S and Bharti S, 2010 . Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. Plant Physiology and Biochemistry. 48: 16-20.

Nelson B M N and Maria A B D, 2006. Physiological and biochemical response of common bean varieties treated with salicylic acid under water stress. Crop Breeding and Applied Biotechnology. 6:269-277.

Netondo G W, Onyango J C, Beck E, 2004. Sorghum and salinity II. gas exchange cholorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Science. 44: 806-811.

Pan Y, Jun Wu L and Liang Yu Z, 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzyme activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*). Plant Growth Regulation. 49: 157-165.

Shi Q, Bao Z, Zhu Z, Ying Q and Qian Q, 2006. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll flurescence and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* (L.) Plant Growth Regulation. 48: 127-135.

Yamane K, Kawasaki M, Taniguchi M and Miyake H, 2008. Correlation between choroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. Plant Production Science. 11(1): 139-145.

Yoshida S, Forno DA, Cock JH and Gomez K, 1972. Routine methods of solutine culture for rice. PP. 53-57. In: Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 2nd ed., The International Rice Research Institute, Philippines.